



TITLE:

マウス胚性幹細胞に及ぼすActivin Aの作用(Abstract_要旨)

AUTHOR(S):

蘆田, 勇平

CITATION:

蘆田, 勇平. マウス胚性幹細胞に及ぼすActivin Aの作用. 京都大学, 2017, 博士(生命科学)

ISSUE DATE:

2017-03-23

URL:

<https://doi.org/10.14989/doctor.k20521>

RIGHT:

許諾条件により本文は2018-03-22に公開

京都大学	博士（生命科学）	氏名	蘆田 勇平
論文題目	マウス胚性幹細胞に及ぼすActivin Aの作用		
<p>(論文内容の要旨)</p> <p>これまでに樹立された多能性幹細胞は、胚盤胞期に対応するナীব多能性状態 (naive pluripotency state) のものと、より発生的に後期の状態に対応するプライムド多能性状態 (primed pluripotency state) のものに分けられると考えられている。Activin/Nodal/TGF-β シグナルは、primed pluripotency state の維持に必須であるが、naive pluripotency state の維持には必要ではない等、多能性幹細胞の種々のシグナル伝達経路に対する応答が多能性の状態によって異なることが報告されている。多能性幹細胞の効率良い培養を行うためには、このようなシグナル伝達に対する応答を詳細に理解することが重要であるが、その解析は十分に行われているとは言えない。本研究において申請者はまず、マウスの naive pluripotency state の幹細胞である胚性幹細胞 (ES 細胞) と、primed pluripotency state の幹細胞であるエピブラスト幹細胞 (EpiSC) およびエピブラスト様細胞 (EpiLC) で Wnt 経路の活性化による遺伝子発現の変化を調べ、その特性を明らかにした。次に、naive pluripotency state と primed pluripotency state の遺伝子発現プロファイルの解析を行うことにより、Activin/Nodal/TGF-β シグナルが naive pluripotency state での遺伝子発現を促進する可能性を示した。この結果は従来考えられていた Activin/Nodal/TGF-β シグナル経路の naive pluripotency state に対する作用とは異なるものであった。そこで、Activin A の naive pluripotency state への作用を検討した。Activin A 単独では ES 細胞を naive pluripotency state に維持することはできなかったが、Activin A を ERK1/2 MAPK シグナル経路の阻害剤 PD0325901 と組み合わせて用いると、naive pluripotency state の遺伝子発現が促進され、ES 細胞の増殖を維持することができることが分かった。また、Activin A と PD0359021 存在下で培養した ES 細胞は、分化条件にすると三胚葉の細胞へ分化でき、遺伝子発現プロファイル、Oct4 の遠位エンハンサーの活性、Wnt 経路活性化に対する応答などの指標において、naive pluripotency state の特徴を維持していた。これらのことから、Activin/Nodal/TGF-β シグナルは、ERK1/2 MAPK シグナル経路の抑制と組み合わせられることによって、マウス ES 細胞において、naive pluripotency state の性質を維持するように作用するということが明らかになった。</p>			

(論文審査の結果の要旨)

申請者は、マウスの多能性幹細胞における種々のシグナル伝達経路の役割について調べ、Activin Aが、ERK1/2 MAPKシグナル経路の阻害剤と組み合わせられることによって、マウスES細胞のnaive pluripotency stateを維持するように働くことを明らかにした。申請者は先ず、Wnt経路がnaive pluripotency stateとprimed pluripotency stateの遺伝子発現に及ぼす作用を調べた。その結果、Wnt経路の標的遺伝子の応答が、naive pluripotency stateとprimed pluripotency stateで異なることを示した。また、Mesp1の発現にOtx2が影響を与えることを明らかにした。さらに、primed pluripotency stateでWnt経路の活性化によって誘導される遺伝子発現はERK1/2 MAPKシグナル経路に依存する傾向があることを示した。次に申請者は、gene set enrichment analysisによってActivin/Nodal/TGF- β シグナル経路の標的遺伝子の発現がES細胞で高い傾向があることを示した。この結果に着目し、Activin Aの作用を調べた結果、Activin AとERK1/2 MAPKシグナル経路の阻害剤PD0325901を組み合わせる用いる培養法(Activin+PD)によってマウスのES細胞の増殖と、多能性に関係する遺伝子の発現が維持されることを明らかにした。さらに申請者は、Activin+PDで培養したES細胞はOCT4とNANOGタンパク質を発現していること、また、in vitroで三胚葉へ分化することができることを示した。そして次に、Activin+PDで培養したES細胞と、他の培養条件で培養したES細胞、EpiSCのゲノムワイドな遺伝子発現をマイクロアレイを用いて比較した。その結果、Activin+PDで培養したES細胞は2iで培養したES細胞に似た遺伝子発現パターンを示すことを明らかにした。さらに、申請者は、Activin+PDで培養したES細胞がアルカリ性ホスファターゼ染色によって染色され、高いOct4の遠位エンハンサー活性を示し、Wnt経路の活性化によって自己複製が維持されることを示した。これらの結果はActivin+PDで培養したES細胞がnaive pluripotency stateの状態で維持されていることを支持するものであった。本論文は、Activin/Nodal/TGF- β シグナルが、マウスES細胞のnaive pluripotency stateを維持するように作用するということを明らかにし、多能性幹細胞におけるシグナル伝達経路の役割の理解に大きく貢献するものである。これら一連の研究において、申請者の持つ生命科学に関する高度で幅広い学識、専攻分野における優れた研究遂行能力、及び生命科学の理解・発展に寄与する新しい発見が示されていると判断できる。また、本論文は、論理的かつ一貫性をもって記述されていた。以上より、本論文は、博士(生命科学)の学位論文として価値のあるものと認めた。また、平成29年1月23日に論文内容とそれに関連した口頭試問を行った結果、申請者を合格と認めた。

論文内容の要旨及び審査の結果の要旨は、本学学術情報リポジトリに掲載し、公表とする。特許申請、雑誌掲載等の関係により、学位授与後即日公表することに支障がある場合は、以下に公表可能とする日付を記入すること。(ただし、学位規則第8条の規定により、猶予期間は学位授与日から3ヶ月以内を記入すること。)

要旨公開可能日： 年 月 日